

**STUDIEN ZUM SULFATASE-NACHWEIS
IN MENSCHLICHEN ORGANHOMOGENATEN
MIT AGARELEKTROPHORETISCHER TECHNIK**

von
Marlene Schenke
aus Tettnang

1967



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41533917_0025



Aus der Abteilung für klinische Immunologie
des Universitätskrankenhauses Erlangen-Nürnberg
Vorstand: Prof. Dr. F. Scheiffarth

**STUDIEN ZUM SULFATASE-NACHWEIS
IN MENSCHLICHEN ORGANHOMOGENATEN
MIT AGARELEKTROPHORETISCHER TECHNIK**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Marlene Schenke
aus Tett nang

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. E. Wetterer

Referent: Prof. Dr. F. Scheiffarth

Tag der mündlichen Prüfung: 18. 12. 1967

I n h a l t s v e r z e i c h n i s

Einleitung.....	1-2
Versuchsanordnung und Methodik	3-7
Ergebnisse.....	7-8
Diskussion.....	9-11
Zusammenfassung.....	11-12
Literaturverzeichnis.....	13-16

E i n l e i t u n g :

Biochemische Untersuchungen in Kombination mit anderen Trennverfahren, insbesondere der Elektrophorese im Agargel, dienen der Aufklärung löslicher Proteine in biologischen Flüssigkeiten wie auch in Organhomogenaten. Frühere eigene Untersuchungen zur Charakterisierung solcher Gewebs- bzw. Organproteine haben ergeben, daß in Organextrakten, vor allem mit Bezug auf fermentaktive Komponenten, im allgemeinen weitaus mehr Fraktionen nachweisbar werden als etwa im vergleichsweise untersuchten menschlichen Serum (9,18,29,32). Besonders eindrucksvoll tritt diese Diskrepanz in Erscheinung bei den Esterasen (3,12,28,32), aber auch bei der Lactatdehydrogenase (20, 21,29) sowie der Peroxydase (11,27), während die Ausbeute der alkalischen Phosphatase-, amylase- sowie oxydase-aktiver Komponenten in Organhomogenaten weniger reichlich ist (u.a. bei 11,12,13,18,25,27,30,31).

Die Kenntnis von Enzymverteilungsmustern in Organhomogenaten dient nicht nur der Bereicherung der Grundlagenforschung zur Aufklärung eiweißchemisch definierbarer Organkonstituenten, sondern zugleich der klinischen Diagnostik. Geläufig sind hier z.B. die Wechselwirkungen der aus akut zerfallenden Geweben stammenden Lactatdehydrogenase (LDH) und der Transaminasen (GOT, GPT, CPK), die heute eine beachtliche Bedeutung als Indikatoren für eine entsprechende Organerkrankung erlangt haben. Auf der Suche nach weiteren derartigen Anhaltspunkten wurden kürzlich auch die verschiedenen Esterasemuster in Organhomogenaten (28) und in pathologischen Seren (12) analysiert, wobei allerdings entsprechende Wechselwirkungen zwischen Organläsion und Fermentkonstellation nicht offensichtlich wurden. Weitere Fermentsysteme, die vor allem zufolge ihrer färbereichen Darstellbarkeit geeignet erscheinen, mit der kombinierten Methode der elektrophoretischen Trennung im Agargel und nachfolgenden Fermentreaktion qualitativ und quantitativ nachgewiesen zu werden, sind u.W. bislang nicht oder nur wenig studiert. Unter ihnen erscheinen die Sulfatasen besonderer Bearbeitung wert.

Bisherige Ergebnisse über Sulfatasen basieren auf den Untersuchungsmethoden von DODGSON und SPENCER (4), sowie LLOYD (19), speziell der Arylsulfatasen auf der Methode von RUTENBURG, COHEN und SELIGMAN (23). Da Arylsulfatasen als eine der fünf Untergruppen der Sulfatasen im weiteren Sinne des Wortes, neben ihrem Nachweis in niederen Tieren (Mollusken), Bakterien und Schimmelpilzen vor allem in den meisten Organen der Säugetiere und des Menschen, hier insbesondere im Lebergewebe, aber auch im Harn vorkommen (16), wurden die nachfolgenden Analysen auf den Nachweis dieser Gruppen von Sulfatasen abgezielt. Die Forschungsergebnisse von HUGGINS und SMITH (17) zeigten, daß bestimmte Tumoren von Ratten ungleich größere Mengen an Arylsulfatasen enthalten als die ihnen zuzuordnenden Muttergewebe. Außerdem berichten BOYLAND und Mitarb. (2), sowie DZIALOSZYNSKI (8) über eine auffallend erhöhte Arylsulfataseaktivität im Harn bei bestimmten pathologischen Prozessen. Im ganzen gesehen existieren aber nur unzureichende Angaben über den Nachweis und die Bedeutung von Sulfatasen in der Humanpathologie, so daß es gerechtfertigt erschien, in vorliegender Arbeit zu prüfen, inwieweit Sulfatasen in menschlichen Geweben verbreitet sind, und welche "Fermentmuster" in den einzelnen Homogenaten zur Darstellung kommen.

Erstes Ziel dieser Studien war die Anwendung des Sulfatase-Nachweises aus der Histochemie auf die Agarelektrophorese. Im weiteren wurde die für den Agar ausgearbeitete Ferment-nachweismethode zur Bestimmung von Arylsulfatasen in verschiedenen menschlichen Organhomogenaten sowie im menschlichen Serum angewandt.

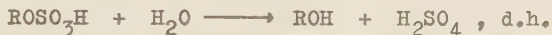
Versuchsanordnung und Methodik

1) Nachweisreaktion sulfataseaktiver Komponenten

a) Wirkungsmechanismus der Sulfatasen

(nach HOFFMANN-OSTENHOF (16)

Die aus der Histochemie bekannten Reaktionen zum Nachweis sulfataseaktiver Bezirke gründen sich im wesentlichen auf die folgenden biologischen Vorgänge:
Die Sulfatasen hydrolysieren alkoholische oder phenolische Körper nach der allgemeinen Gleichung



sie sind in der Lage, Schwefelsäureester unter Wasseraufnahme in Alkohol bzw. Phenol und Säure zu spalten.

b) Einteilung der Sulfatasen

Die bisher biochemisch erfaßten Sulfatasen, wie sie in der Natur, insbesondere im Tierreich verbreitet sind, lassen sich nach ihrem relativ spezifischen Verhalten gegenüber verschiedenen Substraten in folgende Gruppen einteilen:

- a. Arylsulfatasen
- b. Steroidsulfatasen
- c. Glykosulfatasen
- d. Chondrosulfatasen
- e. Sinigrinsulfatasen

Im nachfolgenden wurde ausschließlich die Nachweismethode für Arylsulfatasen ausgearbeitet und auf das vorliegende Untersuchungsgut angewandt.

c) Nachweis der Fermentaktivität von Arylsulfatasen

(nach RUTENBERG, COHEN und SELIGMAN (23)

α) Prinzip:

Der Fermentnachweis beruht darauf, daß die Arylsulfatasen in der Lage sind, den in der Substratlösung

enthaltenen Phenolschwefelsäureester in einen organischen und einen anorganischen Anteil zu spalten, d.h. in Schwefelsäure und Phenol. Durch Kuppelung der Phenolmoleküle mit der Tetrazoniumverbindung der zweiten Inkubationslösung entsteht eine blau-violette Farbreaktion.

β) Substratlösungen

Zur Herstellung der Substratlösungen (Inkubationslösungen) werden folgende Substanzen und Pufferlösungen benötigt:

- 1) 6-Benzoyl-2-naphtylsulfat
 - 2) tetra-azotiertes-o-Dianisidin
 - 3) festes NaCl
 - 4) 0,85%ige NaCl-Lösung
 - 5) 0,5m Azetatpuffer pH = 6,1
-

A. 100 ml H_2O (aqua dest.) + 3g Eisessig

B. 100 ml H_2O (aqua dest.) + 4,1g Natriumazetat
(wasserfrei)

Lösung A wird mit Lösung B im Verhältnis 1 : 22,4 gemischt.

6) 0,05n Phosphatpuffer pH = 7,6

A. 2,34g Na_2HPO_4 (wasserfrei)

B. 2,0g NaH_2PO_4 (wasserfrei)

Substanz A und Substanz B werden in 100 ml H_2O
(aqua dest.) gelöst.

Substratlösung I

25 mg 6-Benzoyl-2-naphtylsulfat werden in 80 cm³ heißer 0,85%iger Kochsalzlösung gelöst. Dann werden 20 cm³ 0,5 m Acetatpuffer, pH = 6,1 zugefügt. Die Substratlösung wird durch einen Zusatz von 2,6 g festem NaCl zu je 100 cm³ Substratlösung hypertotonisch gemacht.

Substratlösung II

Tetra-azotiertes-o-Dianisidin ($1\text{mg} / \text{cm}^3$) wird in 0,05n Phosphatpuffer, pH = 7,6 gelöst.

γ) Arbeitsgang

Nach abgeschlossener Trennung der Extrakte bzw. Seren mit Hilfe der Agarelektrophorese werden die Platten unverzüglich 8 Std. lang bei 37°C in der Substratlösung I inkubiert. Nach zweimaligem Waschen der Platten in aqua dest. bringt man sie unter gelindem Schwenken in die frisch zubereitete Substratlösung II. Wenige Minuten danach werden die ersten Farbreaktionen sichtbar.

2) Untersuchungsgut

Die Analysen wurden an 11 verschiedenen histologisch unveränderten und an 4 malignen Tumorpräparaten menschlicher Organe vorgenommen. Ferner wurden 3 menschliche Normalseren, wie auch 8 pathologische Seren, analysiert.

O r g a n e

n o r m a l

p a t h o l o g i s c h

Rectum
Prostata
Colon
Herz-Muskel
Skelett-Muskel
Leber
Niere
Milz
Gehirn
Ovar
Hoden

Rectum-Ca
Pankreas-Ca
Prostata-Ca
Darmwand-Sa (colon)

S e r e n

n o r m a l

p a t h o l o g i s c h

Normalserum 1	Retothel-Sa
Normalserum 2	Pankreas-Ca
Normalserum 3	Blasen- und Rectum-Ca
	Gallenblasenhydrops
	Mamma-Ca + Hirnmetastase
	Hodgkin
	Nephrose
	Infektiöse Hepatitis

3) Aufbereitung der Organe

Es wurde im wesentlichen nach eigenen früheren Erfahrungen vorgegangen (11,24).

Das frische, von Bindegewebe befreite Sektionspräparat wurde etwa zwei Stunden lang unter fließendem Wasser gewässert, in kleine Würfel geschnitten, im Multimix mit der 5-fachen Menge Wasser (aqua dest.) zerkleinert und danach 25 min. bei 2 500 U/min. zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen, das Sediment im Verhältnis 1:4 mit physiologischer NaCl versetzt und nunmehr mit dem Ultra-Turrax-Zerstäuber homogenisiert. Der so gewonnene Extrakt wurde schließlich 30 min. lang zentrifugiert, der Überstand durch Dialyse gegen 20%iges Kollidon bei +4°C auf eine Eiweißkonzentration von 4 g% eingengt.

4) Agarelektrophorese

Die Elektrophorese im Agargel wurde mittels einer Modifikation der von GRABAR und WILLIAMS (10,14,15,26) beschriebenen Makroelektrophorese durchgeführt.

Zur Proteinfärbung wurde Amidoschwarz 10 B gewählt, die Färbetechnik in üblicher Weise vorgenommen.

5) Photometrische Auswertung der Farbintensitäten

Die gefärbten Fraktionen auf den getrockneten Agarplatten wurden mit dem V i t a t r o n - Universal-Photometer (UFC⁺) bei einer Wellenlänge von $\mu = 540$ ausgewertet, die einzelnen Komponenten planimetriert und in Relation zur Gradientenkurve gesetzt. Die dabei ermittelten relativen Prozente der einzelnen Analysen wurden miteinander verglichen. Statistische Berechnungen erübrigten sich bei der vorliegenden Studie wegen des noch zu kleinen Untersuchungsgutes.

E r g e b n i s s e

Die mit der beschriebenen Methode erzielten Farbreaktionen an agarelektrophoretisch getrennten Organhomogenaten und Seren finden sich vorzugsweise an anodisch gewanderten Proteinen gebunden. Das trifft vor allem für die Organhomogenate zu; im Serum konnten darüber hinaus auch Farbreaktionen im Bereich von β_2 - bzw. γ_1 - Globulinen aufgezeigt werden. Der Farbton war nach einer Inkubation mit Substratlösung I von 8, und der Substratlösung II von 3 Stunden rot-violett. Nach dem Trocknen kam es zu einer lichtstabilen Braunfärbung. Nach photometrischer Bestimmung der Farbintensität kamen im allgemeinen ein relativ breiter Komplex im Bereich von α_1 - und α_2 - Globulinen zur Darstellung, häufig eine weitere Komponente noch vor diesem, d.h. also in einer Zone schnell wandernder α_1 - Globuline bzw. des Albumins. Nahezu regelmäßig war an der Auftragestelle eine intensive Farbreaktion nachweisbar. Am besten reproduzierbar und auch an Farbintensität am deutlichsten trat der beschriebene Komplex im α - Bereich in Erscheinung. Er war in wenigstens drei Fraktionen, häufig in vier Komponenten differenzierbar (Abb. 1).

⁺) VITATRON, Dieren (Holland)

Die Ausbeute in den verschiedenen Organhomogenaten, normalen wie pathologischen, war unterschiedlich.

Unter den normalen Organhomogenaten zeigten sich vor allem Unterschiede in der relativen Verteilung, wobei die häufigsten Abwandlungen darin bestanden, daß die schneller wandernden sulfataseaktiven Komponenten mehr oder weniger deutlich in Erscheinung traten. Während Rectum, Prostata, Hoden, aber auch die Niere relativ reich an diesen Komponenten erschienen, wurden sie im Herzmuskel, im Skelettmuskel, Gehirn, Milz und Ovar zugunsten der langsamer wandernden α_2 - und β_1 -Fraktionen reduziert angetroffen oder gar vermißt. Diese Relationsunterschiede ergaben sich unabhängig von der Konzentration bzw. der Gesamtaktivität der Arylsulfatasen. So konnte gezeigt werden, daß z.B. Leber und Herzmuskel eine relativ stark gefärbte α_2 - / β - Komponente aufwiesen, die, mit Bezug auf die Gesamtaktivität, sicherlich die meisten anderen Organe übertraf, obwohl der Trennbereich sulfataseaktiver Fraktionen im Vergleich zu anderen Organen verkürzt war.

In den maligne entarteten Geweben bzw. Tumorextrakten, war aufgefallen, daß sie insgesamt eine bessere Darstellung und in zwei Fällen, beim Rectum-Ca und Pankreas-Ca, darüberhinaus sulfataseaktive Fraktionen im kathodisch gewanderten Bereich erkennen ließen (Abb. 1b, 8).

In den untersuchten Normalseren war aufgefallen, daß sich mit Regelmäßigkeit vier Zonen mit der Sulfataseaktivität innerhalb des elektrophoretischen Trennbereiches darstellen ließen. Diese Zonen befinden sich im Albumin / α_1 - Globulin-Bereich, weiterhin als breiter Komplex im Bereich von α_2 -Globulinen, an der Auftragestelle, sowie als ein Komplex im β_2 - / γ_1 - Bereich.

Die pathologischen Seren unterscheiden sich im wesentlichen darin, daß vor allem der α_2 - Komplex mehr oder weniger deutlich in Erscheinung tritt (z.B. Hodgkin, Blasen- und Rectum-Ca). Darüber hinaus wurde aber auch die im Albuminbereich bzw. eine vor den Albuminen wandernde Fraktion quantitativ angereichert gefunden (z.B. Pankreas-Ca, Mamma-Ca und Hirnmetastasen, Gallenblasenhydrops ; Abb. 10c, 11b)

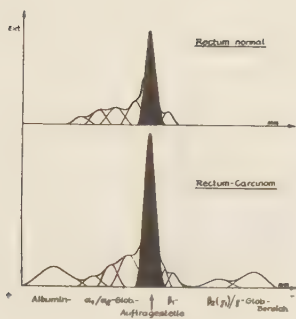


Abb. 1

Diagramm sulfataseaktiver Komponenten im Homogenat eines

- a) gesunden Rectums
- b) Rectum-Carcinoms

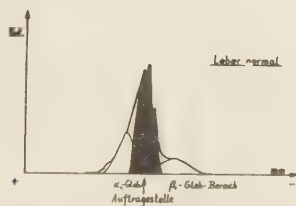


Abb. 2

Diagramm sulfataseaktiver Komponenten im Homogenat einer

- a) gesunden Leber
- b) gesunden Niere

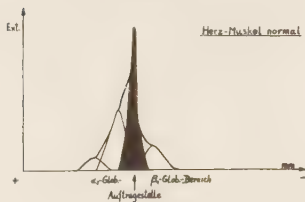


Abb. 3

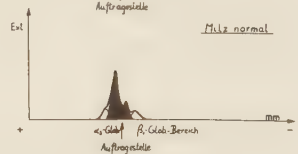
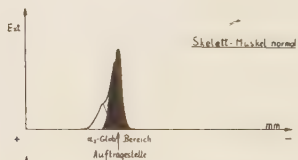
Zeigt das Diagramm sulfatase-aktiver Komponenten im Homogenat eines

- a) gesunden Colons
- b) gesunden Herz-Muskels

Abb. 4

Zeigt das Diagramm sulfatase-aktiver Komponenten im Homogenat

- a) eines gesunden Skelett-Muskels
- b) eines gesunden Gehirns
- c) einer gesunden Milz



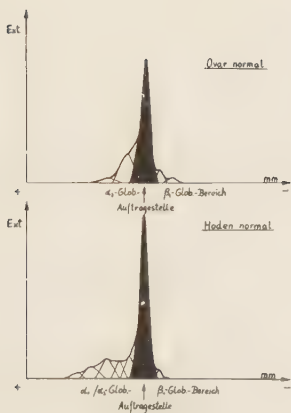


Abb. 5

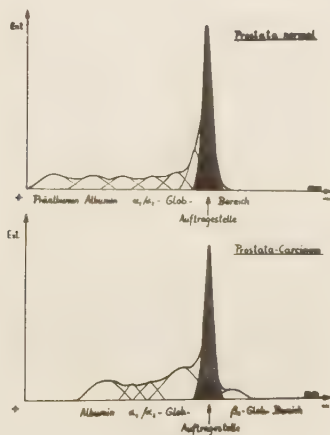
Diagramm sulfataseaktiver
Komponenten im Homogenat eines

- a) gesunden Ovars
- b) gesunden Hodens

Abb. 6

Diagramm sulfataseaktiver
Komponenten im Homogenat

- a) einer gesunden Prostata
- b) eines Prostata-Carcinoms



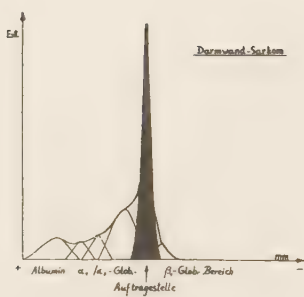


Abb. 7

Diagramm sulfataseaktiver Komponenten im Homogenat eines Darmwand-Sarkoms.

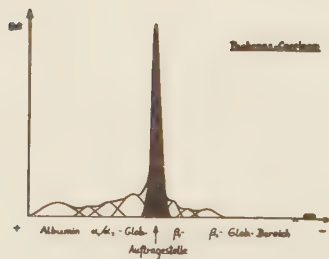


Abb. 8

Diagramm sulfataseaktiver Komponenten im Homogenat eines Pankreas-Carcinoms.

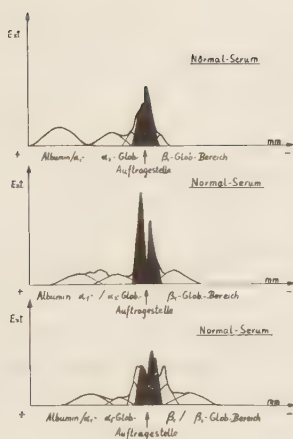


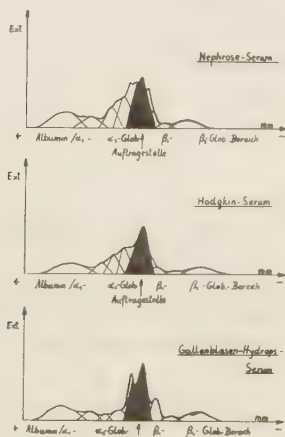
Abb.9 (a,b und c)

Diagramm sulfataseaktiver
Komponenten im Serum von Ge-
sunden.

Abb.10

Diagramm sulfataseaktiver
Komponenten im Serum von Pa-
tienten mit

- Nephrose
- Hodgkin
- Gallenblasen-Hydrups



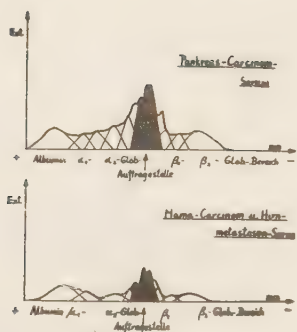


Abb. 11

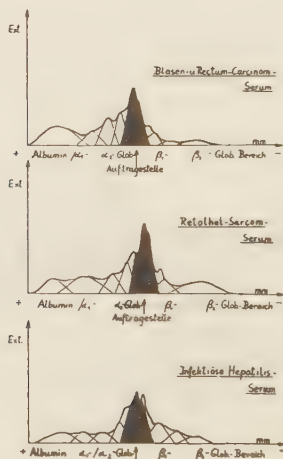
Diagramm sulfataseaktiver Komponenten im Serum von Patienten mit

- a) Pankreas-Carcinom
- b) Mamma-Carcinom und Hirnmetastasen

Abb. 12

Diagramm sulfataseaktiver Komponenten im Serum von Patienten mit

- a) Blasen- und Rectum-Carcinom
- b) Retothel-Sarkom
- c) Infektiöser Hepatitis



D i s k u s s i o n

Der spezifische Wirkungsmechanismus von Arylsulfatasen besteht darin, daß sie die Hydrolyse von Phenolschwefelsäure-Estern katalysieren (16). Sie gehören zur großen Gruppe der Sulfatasen; nach ihrem Vorkommen nehmen die Arylsulfatasen insofern eine besondere Stellung unter den Sulfatasen ein, als sie im Säugetierorganismus, vorwiegend in den verschiedenen menschlichen Organen, z.B. Pankreas, Leber, Niere, Lunge, Hirn, Herz, Dickdarm, Dünndarm und Milz (7) nachweisbar wurden, und daß sie auch unter pathologischen Bedingungen in maligne entarteten Geweben und in biologischen Flüssigkeiten, z.B. im Harn, unter pathologischen Bedingungen vermehrt vorkommen.

Erste Untersuchungsergebnisse über die Wirkung einer Arylsulfatase gehen auf DERRIEN (in 16) 1911 zurück. Jedoch gelang es erst im Jahre 1953 durch die Arbeiten von ROY (22) und weiter von DODGSON (5,6,7), den Wirkungsmechanismus von Sulfatasen näher aufzuklären. Nach deren Forschungsergebnissen existieren mindestens drei verschiedene Enzymtypen, deren Differenzierung einerseits nach ihrem Verhalten gegenüber verschiedenen Inhibitoren, andererseits durch physikalische Untersuchungsmethoden (7) möglich wird. Sie werden vorläufig mit Arylsulfatase A, B und C bezeichnet.

Wiewohl es nach den Angaben von BAUM und Mitarb. (1) durchaus gelingt, wenigstens die Arylsulfatase A von der Arylsulfatase B getrennt darzustellen, wurde in vorliegenden Untersuchungen auf derartige Differenzierung bewußt verzichtet, da zunächst geprüft werden sollte, ob die aus der Histochemie bekannten Farbreaktionen zum Nachweis von Arylsulfatasen auf die Agarelektrophorese übertragen werden können, und weiterhin, ob in menschlichen Organhomogenaten der Nachweis derartiger Enzyme auch mit dieser Methode gelingt.

Die erzielten Ergebnisse weisen darauf hin, daß in den Homogenaten normaler Organe des Menschen - untersucht wurden hier Rectum, Prostata, Colon, Herzmuskel, Skelettmuskel, Leber,

Niere, Milz, Gehirn, Ovar, Hoden - auf Grund der positiven Farbreaktion Arylsulfatasen in unterschiedlicher quantitativer und qualitativer Verteilung nachweisbar werden. Gemessen an der Gesamtaktivität bzw. der Farbintensität, stimmen die vorliegenden Befunde mit einzelnen in der Literatur angegebenen Resultaten relativ überein (7,16). So konnte z.B. in der Leber, Niere, Herzmuskel eine quantitativ reiche Ausbeute mit einem allerdings relativ kurzen elektrophoretischen Trennbereich mit vorwiegend anodisch gewanderten Komponenten erzielt werden, während im Skelettmuskel, Gehirn und Milz bei gleichartigem Enzymmuster die Farbintensitäten wesentlich geringer in Erscheinung traten. Rectum- bzw. Colonschleimhaut, sowie die Extrakte von Prostata und Hoden, zeigten zwar eine nur mittelkräftige Farbreaktion und wiesen damit eine mit den vorgenannten Organen gleichwertige Gesamtkonzentration auf; sie zeigten jedoch insofern Unterschiede auf, als sich ihr Trennbereich in Richtung stärker anodisch gewandelter Fraktionen ausbreitete. Über Enzymverteilungsmuster der Arylsulfatasen bestehen in der Literatur keine Angaben, sodaß eine vergleichende Diskussion hierzu nicht möglich ist. Die Homogenate der einzelnen maligne entarteten Gewebe - so Rectum-Ca, Pankreas-Ca, Prostata-Ca und Darmwand-Sa - fielen durchweg durch ihre einwandfrei intensiveren Farbreaktionen, sowie durch eine ebenfalls deutliche Verbreiterung des Trennbereiches, hier auch unter Einbeziehung kathodisch gewandelter Komponenten, auf. Somit erscheint die Arylsulfataseaktivität im Tumorgewebe nicht nur quantitativ angereichert, sondern auch durch das Auftreten neuer sulfaseaktiver Komponenten gekennzeichnet zu sein. Ob es sich hier um Folgen des andersartigen Zellstoffwechsels oder um den Ausdruck gesteigerter Mitosevorgänge handelt, kann vorerst noch nicht beurteilt werden.

Die im Serum von Gesunden und Patienten mit verschiedenen Erkrankungen erhobenen Befunde weisen darauf hin, daß Beziehungen zwischen dem pathologisch veränderten Organ und der Enzymkonstellation im entsprechenden Patientenserum be-

stehen, da sich wenigstens mit Bezug z.B. auf das Pankreas-Ca und das Rectum-Ca eine weitgehende Identität des Organ-enzymmusters mit dem des Serums aufzeigen ließ. Gesetzmäßigkeiten werden sich jedoch erst nach Erstellung eines größeren Untersuchungsgutes ableiten lassen, ebenso wie erst dann die Frage einer diagnostisch verwertbaren Indikatorrolle von Arylsulfatasen bei Organerkrankungen beantwortet werden kann.

Immerhin konnte durch die vorliegenden Untersuchungen gezeigt werden, daß der Nachweis von Arylsulfatasen in Kombination mit der Agarelektrophorese gelingt, wodurch neben der rein quantitativen Beurteilung zugleich das qualitative Verteilungsmuster dieses Enzyms näher charakterisiert werden kann.

Z u s a m m e n f a s s u n g

Es wurden menschliche Organhomogenate im Vergleich zu Serum auf das Verteilungsmuster der im Agar getrennten Arylsulfatasen untersucht.

Es kamen unveränderte Organe (Rectum, Prostata, Colon, Herzmuskel, Skelettmuskel, Leber, Niere, Milz, Gehirn, Ovar, Hoden) sowie maligne entartete Gewebe (Rectum-Ca, Pankreas-Ca, Prostata-Ca, Darmwand-Sa), außerdem die Seren von Gesunden wie auch von Patienten mit verschiedenen Erkrankungen (Retothel-Sa, Pankreas-Ca, Blasen- und Rectum-Ca, Gallenblasenhydrops, Mamma-Ca und Hirnmetastasen, Hodgkin, Nephrose, infektiöse Hepatitis) zur Untersuchung.

Die Methodik des Fermentnachweises wurde aus der Histochemie auf den Agar übertragen.

Als Ergebnis konnte festgestellt werden:

a, In den unveränderten Organen war der Fermentnachweis vorwiegend an anodisch gewanderten Eiweißsystemen gebunden.

- b. In den maligne entarteten Organen ließen sich Sulfatasen außer im anodischen, verschiedentlich auch im kathodischen Bereich aufzeigen. Dabei war hier eine quantitativ intensivere Fermentaktivität nachweisbar als bei unveränderten Organen. Auffallend war darüber hinaus eine deutliche Verbreiterung des Trennbereiches der Fraktionen.
- c. In den Seren von Gesunden ließen sich sulfataseaktive Komponenten vornehmlich im Bereich von α_2 - Globulinen, an der Auftragestelle und im β - Bereich aufzeigen.
- d. Die pathologischen Seren unterschieden sich von den Normalseren vor allem dadurch, daß der α_2 - Komplex bei ihnen deutlicher als bei den Normalseren in Erscheinung trat. Zudem war hier auch der Albumin- und Präalbuminbereich sulfataseaktiv. Auffallend war ferner, wie es sich am Pankreas-Ca und Rectum-Ca besonders deutlich zeigen ließ, eine weitgehende Identität des Fermentmusters der pathologischen Seren mit dem der entsprechenden pathologischen Organhomogenate.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

- 1) BAUM, H., K.S. DODGSON und B. SPENCER:
The assay of arylsulphatases A and B in human urine.
Clin.Chim.Acta 4, 453 (1959)
- 2) BOYLAND, E., D.M. WALLACE und D.C. WILLIAMS:
The activity of enzymes sulfatase and glucuronidase
in the urine of normal and cancer patients.
Biochem. J. 56, 29 (1954)
- 3) DIOGUARDI, N. und G. SECCHI:
Ricerche elettroforetiche in gel d'agar sulle
esterasie carbossiliche del siero e dei frotti
epatobiotici in corso di epatite acuta.
Soc. Ital. Gastroenterol., Seduta 1964, 586
- 4) DODGSON, K.S. and B. SPENCER:
Studies on sulphatases - the determination of in-
organic sulphate in the study of sulphatases.
Biochem. J. 55, 436 (1953)
- 5) DODGSON, K.S. und B. SPENCER:
Assay of sulphatases.
Meth. Biochem. Analysis 4, 211 (1957)
- 6) DODGSON, K.S., B. SPENCER und J. THOMAS:
Studies on sulphatases - The arylsulphatases of
mammalian livers.
Biochem. J. 59, 29 (1955)
- 7) DODGSON, K.S., B. SPENCER und C.H. WYNN:
Studies on sulphatases. The arylsulphatases of
human tissues.
Biochem. J. 62, 500 (1956)
- 8) DZIALOSZINSKI, L.M.:
The clinical value of arylsulphatase estimation in
urine.
Clin. Chim. Acta 2, 542 (1957)
- 9) GÖTZ, H.:
Fermentnachweis in Leberhomogenaten.
Medizin und Ernährung 7, 29 (1966)

- 10) GÖTZ, H., G. BERG und F. SCHEIFFARTH:
Methodische Grundlagen der Immunoelktrophorese.
Z. Immun. Forsch. 114, 72 (1957)
- 11) GÖTZ, H., F. SCHEIFFARTH und G. GAST:
Agarelektrophoretische Studien an Leberextrakten.
Z. Gastroenterologie 2, 148 (1964)
- 12) GÖTZ, H., F. SCHEIFFARTH und F. VIKTOR:
Studien über das Enzymmuster der Serumesterasen.
(Arbeit zum Druck fertiggestellt)
- 13) GÖTZ, H., H. WÜST und F. RAIES:
Agarelektrophoretische Studien zur Frage von Iso-
enzymen der Amylase.
Clin. Cim. Acta (im Druck)
- 14) GRABAR, P.:
Etude sur les protéines à l'aide de méthodes immuno-
chimiques.
Bull. Soc. chim. biol. 36, 65 (1954)
- 15) GRABAR, P. und C.A. WILLIAMS:
Méthodes permettant l'étude conjuguée des pro-
priétés électrophorétiques et immunochimiques
d'un mélange de protéines; application au serum
sanguin.
Biochem. Biophys. Acta(Amsterdam) 10, 193 (1953)
- 16) HOFFMANN-OSTENHOFF, O.:
Schwefelsäure-Ester - Hydrolysen.
In: HOPPE-SEYLER/THIERFELDER: Handbuch d. physiol.-
und pathol.-chem. Analyse, Berlin-Heidelberg-
New York 1966, 10.Auflage, Bd. VI/B, S.1103
- 17) HUGGINS, C. und D.R. SMITH:
Chromogenic substrates-p-nitrophenyl sulfate as
a substrate for the assay of phenosulfatase activity
J. biol. Ch. 170, 391 (1947)
- 18) LICHT, W.:
Die Eiweißzusammensetzung der gesunden und cirrho-
tischen menschlichen Leber. Elektrophoretische
und immunoelktrophoretische Untersuchungen.
Hoppe-Seyler's Z.f.physiol.Chem.334, 275 (1963)

- 19) LLOYD, A.G.:
Studies on sulphatases-The use of barium chloranilate
in the determination of enzymically liberated
sulphate.
Biochem. J. 72, 133 (1959)
- 20) PFLEIDERER, G. und E.D. WACHSMUTH:
Alters- und funktionsabhängige Differenzierung der
Lactatdehydrogenase menschlicher Organe.
Biochem.Z. 334, 185 (1961)
- 21) RICHTERICH, R. und A. BERGER:
Lactic dehydrogenase isoenzymes in human cancer
cells and malignant effusions.
Enzym. biol. clin. 3, 65 (1963)
- 22) ROY, B.A.:
a) The sulphatase of ox liver. The purification and
properties of sulphatase A.
Biochem. J. 55, 653 (1953)
b) The sulphatase of ox liver. Further observations
on sulphatase B and investigation of the origin
of fractions A and B.
Biochem. J. 57, 465 (1954)
- 23) RUTENBURG, A.M., R.B. COHEN and A.M. SELIGMAN:
Histochemical demonstration of aryl-sulphatase.
Science, New Series 111, 539 (1952)
- 24) SCHEIFFARTH, F. und H. GÖTZ:
Immunoelktrophoretische Untersuchungen an Organ-
extrakten.
Klin. Wschr. 41, 587 (1963)
- 25) SCHEIFFARTH, F. und H. GÖTZ:
Eine Methode zum Diastasenachweis agaroelektro-
phoretisch getrennter Proteingemische.
Klin. Wschr. 42, 130, (1964)
- 26) SCHEIFFARTH, F., H. WARNATZ, H. GÖTZ, W. FRENGER und
G. BERG:
In: N.HENNING:Klinische Laboratoriumsdiagnostik
Urban u. Schwarzenberg, München-Berlin, 3.Aufl.
1966

- 27) SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und AL-SAFAR:
Weitere agarelektrophoretische Studien an menschlichen Organextrakten.
Med. exp. 10, 27 (1964)
- 28) SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und S. EBERT:
Über esterase-aktive Fraktionen in verschiedenen menschlichen Organextrakten.
Clin. Cim. Acta 14, 519 (1966)
- 29) SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und R. FRICK:
Agarelektrophoretische Studien zum Nachweis von Isoenzymen der Lactatdehydrogenase in verschiedenen menschlichen Organextrakten.
Enzymol. Biol. Acta 1967 (im Druck)
- 30) SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und D. HOFFMANN:
Diastasenachweis in einigen menschlichen Organextrakten mit Hilfe der Elektrophorese im Agargel.
Z. Gastroenterologie 2, 76 (1964)
- 31) SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ, H. WARNATZ und G. AUTENRIETH:
Agarelektrophoretische und immunologische Studien an Extrakten der normalen menschlichen Colon-Schleimhaut.
Z. Gastroenterologie 5, (im Druck) 1967
- 32) SECCHI, G.C. und N. DIOGUARDI:
Multiple forms of serum and liver esterases in the normal state and the cirrhosis of the liver.
Enzymol. biol. clin. 5, 29 (1965)

Herrn Prof. Dr. F. Scheiffarth möchte ich herzlich danken für die Überlassung des Themas, die in Freundlichkeit erteilten Ratschläge zur Bearbeitung desselben, sowie die Übernahme des Referates.

Ein besonderes Anliegen ist es mir, an dieser Stelle Frau Dr. H. Götz herzlich zu danken für die lebenswürdige Hilfe während dieser Arbeit.

L e b e n s l a u f

Am 15. Oktober 1939 wurde ich als Tochter des Chefarztes Dr. med. Wilfried Hole und seiner Ehefrau Dr. med. dent. Gertrud Hole, geb. Bruch, in Tett nang geboren.

Von 1945 bis 1950 besuchte ich die Volksschule, bis 1956 das Progymnasium in Tett nang. Im Frühjahr 1959 legte ich am Mädchengymnasium in Ravensburg das Abitur ab.

Anschließend absolvierte ich einen Kursus einer Handelsschule in Ravensburg.

Mit dem Studium der Zahnheilkunde begann ich in Tübingen im Wintersemester 1959/60. Ich studierte ferner in Heidelberg und Erlangen, wo ich am 13. September 1966 das Zahnmedizinische Staatsexamen bestand.

Seit dem Oktober 1964 bin ich mit dem wissenschaftlichen Assistenten Assessor Dr. jur. Wolf Schenke verheiratet.

Offsetdruck - Fotodruck

Josef Hogl

8520 Erlangen, Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz,) Tel. 22990

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 852 Erlangen, Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990
